# Microparticles and ultrasonic contrast means containing gas bubbles.

Patent number:

EP0123235

**Publication date:** 

1984-10-31

Inventor:

HILMANN JURGEN; LANGE LOTHAR DR;

ZIMMERMANN INGFRIED DR

**Applicant:** 

SCHERING AG (DE)

Classification:

- international:

A61K49/00

- european:

A61K49/22P4

Application number: EP19840104211 19840413

Priority number(s): DE19833313947 19830415

Also published as:

JP59205329 (A) FI841463 (A) EP0123235 (A3)

EP0123235 (B1) IE840836L (L)

more >>

Cited documents:

EP0052575 EP0077752

US4265251

## Abstract of EP0123235

1. Contrast medium containing microparticles and gas bubbles for ultrasound diagnostics, characterised in that it contains microparticles of a mixture of a semi-solid or liquid surface-active substance and a nonsurface-active solid in a liquid carrier.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

19 O	ches Patentamt Patent Office popéen des brevets	(1) Veröffentlichungsnummer:	0 123 23 A2
<b>®</b>	EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG		
Anmelderummer: \$4104     Anmeldetag: 13.04.84	n2	(9) Int. CL. <sup>1</sup> : A 61 K 49/00	
Prioritik: 15.84.E3 DE 33     Veröffentlichungstag der A 31.10.84 Persechben: 34     Bersentte Vertragsstaeten; AT BE CH DE PR GB [T	hrneidung: 14	Anmalder: SCHERING AKTENGE and Bergkinson     Milbertresses 170/178 Peethach 65     D-1000 Berlin 65(DE)     Erfinder: Hillmann, Jüngen     Ugendastrasse 8     D-1000 Berlin 65(DE)     Erfinder: Lange, Lother, Dr.,     Beskidenstrasse 34     D-1000 Berlin 65(DE)     Erfinder: Zimmermann, Ingfried,     Golanczstrasse 22e     D-1000 Berlin 28(DE)	<b>&amp;11</b>

Triger, enthät.

Es gestatet bei Ultraschalleufnahmen nach intravenös
Applikation die Kontrastrebung des linken Herzene, de

rechtes Herz.

P 0 123 235 A

Croydon Printing Company Ltd.

11/07/2000 13:23:44 page -1-

- 1 -

0123235

#### Beschreibung:

Die Erfindung betrifft die in den Ansprüchen gekennzeichne en Gegenstände.

Die Untersuchung von Organen mit Ultraschall (Sonographie) ist eine seit einigen Jahren gut eingeführte
und praktizierte diagnostische Methode. Ultraschallwellen im Megahertz-Bereich (oberhalb 2 Mega-Hertz
mit Wellenlängen zwischen 1 und 0,2 mm) werden an Grenzflächen von
unterschiedlichen Gewebearten reflektiert.
Die dadurch entstehenden Echos werden verstärkt und
sichtbar gemacht. Von besonderer Bedeutung ist dabei
die Untersuchung des Herzens mit dieser Methode, die
Echokardiographie genannt wird (Haft, J.I. et al.:
Clinical echocardiography, Futura, Mount Kisco, New York
1978; Köhler, E. Klinische Echokardiographie, Enke,
Stuttgart 1979; Stefan, G. et al.: Echokardiographie,
Thiese, Stuttgart-New York 1981; G. Biamine, L. Lange:
Echokardiographie, Hoechst AG, 1983.

Da Flüssigkeiten - auch das Blut - nur dann Ultraschall-Kontrast liefern, wenn Dichte-Unterschiede zur Umgebung bestehen, wurde nach Höglichkeiten gesucht, das Blut und seine Strömung für eine Ultraschall-Untersuchung sichtbar zu machan, was durch die Zugabe von feinsten Gasbläschen auch nöglich ist.

Aus der Literatur sind mehrere Methoden zur Herstellung und Stabilisierung der Gasbläschen bekannt. Sie lassen sich beispielsweise vor der Injektion in den Blutstrom durch heftiges Schütteln oder Rühren von Lösungen wie Salzlösungen, Farbstofflösungen oder von vorher entnommenen Blut erzeugen.

11/07/2000 13:23:44 page -2-

- 2 -

Obwohl man dadurch eine Ultraschall-Kontrastgebung erreicht, sind diese Hethoden mit schverwiegenden Nachteilen verbunden, die sich in schlechter Reproduzierbarkeit, stark schwankender Größe der Gasbläschen und bedinge durch einen Anteil an sichtbaren großen Bläschen - einem gewissen Embolie-Risiko Bußern. Diese Nachteile wurden durch andere Herstellungsverfahren teilwaise behoben, wie beispielsweise durch das US-Patent 3,640.271, in dem Bläschen mit reproduzierbarer Größe durch Filtration oder durch die Anwendung einer unter Gleichstem stehenden Elektrodenvorrichtung erzeugt werden. Dem Vorteil in der Höglichkeit, Gasbläschen mit reproduzierbarer Größe herstellen zu kömmen, steht der erhebliche technische Aufwand als Nachteil gegenüber.

In dem US-Patent 4,276,885 wird die Herstellung von Gasbläschen mit definierter Größe beschrieben, die mit einer vor dem Zusammenfließen schützenden Gelatine-Hülle umgeben sind. Die Aufbewahrung der fertigen Blöschen kann nur im "eingefrorenen" Zustend erfolgen, beispielsweise durch Aufbewahren bei Kühlschranktemporatur, wobei sie zur Verwendung wieder auf Körpertemperatur gebracht werden müssen.

In dem US-Fatent 4,265,251 wird die Herstellung und Verwendung von Gasbläschen mit einer festen Hille aus Sacchariden beschrieben, die mit einem unter Druck

11/07/2000 13:23:44 page -3-

- 3 -

stehenden Gas gefüllt sein können. Stehen sie umter Normaldruck, so können sie als Ultraschallkontrastmittel eingesetzt werden; bei Verwendung mit erhöhtem Innendruck dienen sie der Blutdruckmessung. Obwohl hierbei die Aufbewahrung der festen Gasbläschen kein Problem darstellt, ist der technische Aufwand bei der Herstellung ein erheblicher Kostenfaktor.

Die Risiken der nach dem Stand der Technik zur Verfügung stehenden Kontrastmittel werden durch zwei Faktoren hervorgerufen: Größe und Anzahl sowohl der Feststoffpartikel als auch der Gasbläschen.

Der bisher geschilderte Stand der Technik gestattet die Herstellung von Ultraschalikontrastmitteln, die stets nur einige der geforderten Eigenschaften besitzen:

- 1.) Ausschalten des Embolierisikos
  - Gasbläschen (Größe und Anzahl)
  - Feststoffpartikel (Größe und Anzehl)
- 2.) Reproduzierbarkeit
- 3.) genügend lange Stabilität
- 4.) Lungengängigkeit, s.B. um Ultraschall-Kontrastierung des linken Herzteiles zu erhalten
- 5.) Kapillargängigkeit
- 6.) Sterilität und Pyrogenfreibeit der Zubereitung
- 7.) leichte Herstellbarkeit mit vertretbarem Kostenaufwand
- 8.) und problemlose Bevorratung.

In der europäischen Patentanmeldung mit der Veröffentlichungs-Nummer 52575 wird zwar die Herstellung von Gasbläschen beschrieben, die diese erforderlichen Eigen-4-

schaften besitzen sollen. Zu ihrer Herstellung werden Mikropartikel einer festen kristallinen Substanz,

wie beispielsweise Galaktose, in einer Trägerflüssigkeit suspendiert, wobei das Gas, das an der Partikeloberfläche adsorbiert, in Hohlräumen zwischen den Partikel oder in interkristallinen Hohlräumen eingeschlossen ist, die Gasbläschen bildet. Die so entstandene Suspension von Gasbläschen und Hikropartikel wird innerhalb won 10 Minuten injiziert. Obwohl in der europäischen Patentschrift 52575 behauptet wird, daß die nach der beschriebenen Methode hergestellte Suspension geeignet ist, nach Injektion in eine periphere Vens sowohl auf der rechten Herzseite als auch nach Passage der Lunge in der linken Herz-Seite zu erscheinen und dort das Blut und dessen Strömung bei Ultraschall-Untersuchung sichtbar zu machen, hielt diese Behauptung einer Hachprüfung nicht stand. So wurde festgestellt, daß das nach der in der europäischen Anmeldung Er. 52575 beschriebenen Methode hergestellte und in eine periphere Vene injizierte Kontrastmittel keine Ultraschall-Echos im linken Herzteil erzeugten.

Es war die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Kontrasteittel für die Ultraschall-Diagnostik bereitzustellen, das in der Lage ist, nach intravenöser Applikation das Blut und dessen Strömungsverhältnisse nicht nur auf der rechten Seite des Herzens, sondern auch nach der Pansage des Kapillarbettes der Lunge auf der linken Herzseite für Ultraschall sichtbar zu machen. Darüberhinsus soll es auch die Darstellung der Durchblutung anderer Organs wie Myogard, Leber, Milz und Niere gestatten.

Die neuen erfindungsgemäßen Mittel gemäß der Ansprüche l bis 11 besitzen alle Eigenschaften, die von einem solchen Kontrastmittel erwartet werden und die auf Seite Jaufgezählt wurden.

11/07/2000 13:23:44 page -5-

-5-

Es wurde überreschenderweise festgestellt, daß durch Suspendieren von Mikropartikel der Hischung von einer halbfesten oder flüssigen grenzflächenaktiven Substanz mit einem nicht grenzflächenaktiven Feststoff in einer Trägerflüssigkeit ein Ultraschall-Kontrastmittel erhalten wird, das nach Injektion in eine periphere Vene auch vom Blut in der arteriellen linken Herzseite reproduzierbare Ultraschall-Aufnahme ermöglicht. Da mit dem erfindungsgemäßen Ultraschall-Kontrastmittel nach intravenöser Gabe die linke Berzseite erreicht werden kann, sind so auch Ultraschall-Kontraste von anderen von der Aorta sus mit Blut versorgten Organen nach venöser Applikation moglich, wie Hyokard, Leber, Milz, Niere u.a.w. Es versteht sich von selbst, daß das erfindungsgemäße Ultraschall-Kontrastmittel auch für Rechtsherz-Kontraste und für alle übrigen Anwendungen als Ultraschall-Kontrastmittel geeignet ist.

Als halbfeste oder flüssige grenzflächenaktive Sub stanzen, die Bestandteil der für die Herstellung der Mikropartikel benötigten Mischung sind, sind alle Stoffe geeignet, die in den angewandten Mengen physiologisch verträglich sind, d.h. die eine geringe Toxizität besitzen und/oder biologisch abbaubar sind und deren Schmelzpunkt niedriger als Raumtemperatur ist, d.h. die bei Raumtemperatur halbfest oder flüssig sind. Insbesondere geeignet sind Lecithine, Lecithinfraktionen und deren Abwandlungsprodukte, Polyoxyethylenfettsäureester wie Polyoxyethylenfettalkoholäther, polyoxyethylierte Sorbitanfettsäureester, Glycerin-polyethylenglykoloxystearst, Glycerinpolyethylenglykolrizinolest, ethoxylierte Sojasterine, ethoxylierte Rizinusöle und deren hydrierte Derivate, Polyoxyäthylenfettsäurestearate und Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymere, Saccharoseester oder Saccharoseglyceride sowie Xyloglyceride, wie Sojaölsaccharoseglycerid und Palmölxylid,

11/07/2000 13:23:44 page -6-

`0123235

ungesättigte  $(C_4-C_{20})$ -Fettalkohole oder  $(C_4-C_{20})$ -Fettsäuren, Polyoxyäthylenfettsäureester, Nono-, Di- und Triglyceride, Fettsäureester der Saccharose oder Fettsäureester wie Butylstearat, Palmölsaccharoseglycerid, Baumvollsa atölsaccharoseglycerid, wobei Butylstearat, Sojaülsaccharoseglycerid und Polyäthylenglykolsorbitanmonostearat bevorzugt sind.

Die grenzflächenaktive Substanz wird in einer Konzentration von 0,01 bis 5 Gewichtsprozent, vorzugsweise von 0,04 bis 0,5 Gewichtsprozent verwendet.

Als nicht grenzflächenaktive Substanzen, die Bestandteil der für die Herstellung der Mikropartikel benötigten Mischung sind, kommen in Frage organische und anorganische Verbindungen, zum Beispiel Salze, wie Natriumchlorid, Natriumcitrat, Natriumacetat oder Natriumtartrat, konosaccharide, wie Glucose, Fructose oder Galaktose. Disaccharide, wie Saccharose, Lactose oder Naltose, Pentosen, wie Arabinose, Xylose oder Ribose oder Cyclodextrine wie g-, ß- oder y-Cyclodextrin, wobei Galactose, Lactose und g-Cyclodextrin bevorzugt sind. Sie sind in einer Konzentration von 5 bis 50 Gewichtsprozent, worzugsweise von 9 bis 40 Gewichtsprozent, im erfindungsgemäßen Mittel enthalten.

Zur Herstellung der Mikropartikel wird die nicht oberflächenaktive Substanz unter sterilen Bedingungen rekristellisiert. Anschließend wird die grenzflächenaktive Substanz zusammen mit dem nicht grenzflächenaktiven Feststoff unter sterilen Bedingungen vermischt und zerkleinert, z.B. durch Vermahlung in einer Luftstrahlmühle, bis die gewünschte Partikelgröße arreicht ist. Erhalten wird eine Partikelgröße von 10 µm, vorzugsweise 8 µm, insbasomdere 1-3 µm. Die Partikelgröße wird in geeigneten Heßgeräten bestimmt. Das Gewichtsverhältnis von grenzflächenaktiver Substanz zum nicht grenzflächenaktiven Feststoff kamm von 0,01 bis 5: 100 betragen.

-7-

Sowohl die durch das Zerkleinerungsverfahren erreichte Größe der Mikropartikel als auch die Größe der im erfindungsgemäßen Kontrastmittel enthaltenen Gesblüschen gewährleistet eine gefahrlose Passage des Kapillarsystems und des Lungenkapillarbettes und schließt das Entsteben von Embolien aus.

Die für die Kontrastgebung benötigten Gasbläschen werden teilweise durch die suspendierten Mikropartikel transportiert, an der Oberfläche der Mikropartikel absorbiert, in den Hohlräumen zwischen den Mikropartikel oder interkristallin eingeschlossen.

Das von den Mikropartikel transportierte Gasvolumen in Form von Gasbläschen beträgt 0,02 bis 0,6 ml pro Gramm Mikropartikel.

Die Trägerflüssigkeit hat neben der Transportfunktion'die Aufgabe, die aus Mikropartikel und Gasbläschen bestehende Suspension zu stabilisieren, z.B. das Sedimentieren der Mikropartikel und das Zusammenfließen der Gasbläschen zu verhindern bzw. den Lösevorgang der Mikropartikel zu verzögern.

Als flüssiger Träger kommen in Frage Wasser, wässrige
Lösungen eines oder mehrerer anorganischer Salze wie
physiologische Kochselzlösung und Pufferlösungen, wässrige
Lösungen von Mono- oder Disacchariden wie Galactose,
Glucose oder Lactose, ein- oder mehrwertige Alkohole,
soweit sie physiologisch verträglich sind wie Äthanol,
Propanol, Isopropylalkohol, Polyethylenglykol, Ethylenglykol, Glycerin, Propylenglykol, Propylenglycolmethylester
oder deren vässrige Lösungen.

-8

Bevorzugt sind Wasser und physiologische Elektrolytlösungen, wie physiologische Kochsalzlösung sowie währige Lösungen von Galactose und Glucose. Werden Lösungen verwendet, beträgt die Konzentration des gelösten Stoffes 0,1 bis 30 Gewichtsprozent, vorzugsweise 0,5 bis 25 Gewichtsprozent, insbesondere vervendet man 0,9 %ige währige Kochsalzlösung oder 20 %ige währige Galactose-Lösung.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung des erfindungsgemäßen Mittels gemäß Anspruch 13.

Zur Herstellung des gebrauchsfertigen UltraschallKontrastmittels gibt man die sterile Trägerflüssigkeit
zu den aus der Mischung von einer halbfesten oder
flüssigen grenzflächenaktiven Substanz und einem nicht
grenzflächenaktiven Feststoff bestehenden Mikropartikel
und schüttelt diese Mischung, bis sich eine homogene
Suspension gebildet hat, wofür ca. 5 bis 10 secerforderlich sind. Die entstandene Suspension wird
sofort nach ihrer Herstellung, spätestens jedoch bis
5 Minuten danach als Bolus in eine periphere Vene oder
einen schon vorhandenen Katheder injiziert, wobei von
0,01 ml bis 1 ml/kg Körpergewicht appliziert werden.

Aus Gründen der Zweckmäßigkeit werden die zur Herstellung des erfindungsgemäßen Mittels benötigten Komponenten, wie Trägerflüssigkeit (A) und Mikropartikel der Mischung von einer halbfesten oder flüssigen grenzflächensktiven Substanz mit dem nicht-grenzflächensktiven Feststoff (B) in der für eine Untersuchung erforderlichen Menge steril in zwei getrennten Gefäßen aufbewahrt. Beide Gefäße haben Verschlüsse, die Entnahme und Zugabe mittels Injektionsspritze unter sterilen Bedingungen ermöglichen (Vials). Die Größe von Gefäß B muß so beschaffen sein, daß der Inhalt von Gefäß A mittels Injektionsspritze nach B überführt werden kann und die vereinigten Komponenten geschüttelt werden können. Die Erfindung betrifft deshalb auch ein Kit gemäß Anspruch 12.

- 9.

Die Durchführung einer echokardiographischen Untersuchung en einem 10 kg schweren Pavian soll die Verwendung des erfindungsgemäßen Kontrastmittels demonstrieren:

5 ml Trägerflüszigkeit (hergestellt nach Beispiel 1 A) mit einer Injektionsspritze werden aus einem Vial enthommen und zu 2 g Mikropartikel (hergestellt nach Beispiel 1 B), die sich in einem zweiten Vial befinden etwa 5-10 sec geschüttelt, bis sich eine rereben und homogene Suspension gebildet hat. Man injiziert 2 ml dieser Suspension in eine periphere Vene (V. jugularis, brachialis oder saphena) über einen 3-Wege-Hahn mit einer Infusionsgeschwindigkeit von mindestens 1 ml/sec., besser mit 2-3 ml/sec. An die Kontrastmittelinjektion schließt sich mit derselben Geschwindigkeit sofort die Injektion. von 10 ml physiologischer Kochsalzlösung an, damit der Kontrastmittel-Bolus so weitgehend wie möglich bis zum Erreichen des rechten Herzteils erhalten bleibt. Vor, während und nach der Injektion wird ein handelsüblicher Schallkopf für die Echokardiographie an den Thorax des Versuchstieres gehalten, so daß ein typischer Querschnitt durch das rechte und linke Herz erhalten wird. Diese Versuchsanordnung entspricht dem Stand der Technik und ist dem Fachmann bekannt.

Erreicht das Ultraschallkontrastmittel das rechte Herz, kann man im 2-D-Echobild oder im M-mode-Echo-Bild verfolgen, wie das durch das Kontrastmittel markierte Blut zumächst die Höhe des rechten Vorhofes, dann die des rechten Ventrikels und der Pulmonalarterie erreicht, wobei für ca. 10 sec. eine homogene Püllung auftritt. Während die Höhlen des rechten Herzens im Ultraschallbild wieder leer werden, erscheint das mit Kontrastmittel markierte Blut nach der Lungenpassage in den Pulmonalvenen wieder, füllt den linken Vorhof, den linken

11/07/2000 13:23:44 page ~10~

- 10 -

Ventrikel und die Aorta homogen, wobei der Iontrast 2 bis 3 mal länger anhält als auf der rechten Herzseite. Neben der Darstellung des Blutflusses durch die Höhlen des linken Herzens kommt es auch zu einer Darstellung des Hyokards, die die Durchblutung wiederspiegelt.

Die Verwendung des erfindungsgemäßen Ultraschall-Kontrastmittels ist aber nicht beschränkt auf die Sichtbarmachung des Blutstroms im erteriellen Teil des Herzens nach venöser Applikation sondern es wird mit ausgezeichmsten Erfolg auch bei der Untersuchung des rechten Herzens und anderer Organe als Kontrastmittel verwendet.

11/07/2000 13:23:44 page -11-

- 11 -

#### Beismiel

## A. Herstellung der Trägerflüssigkeit

Wasser für Injektionszwecke wird zu jeweils 4 ml in 5 ml-V als abgefüllt und 20 Minuten bei 120 °C sterilsiert.

# B. Herstellung der Mikropartikel

Unter sterilen Bedingungen wird eine sterilfiltrierte Lösung von 0,5 g Butylstearst in 40 g Isopropanol auf 199,5 g sterile Galactosepartikel aufgezogen, bei 40 °C und 200 Torr das Isopropanol abgetrocknet und mit einer Luftstrahlmühle vermahlen, bis folgende Größenverteilung der Partikel erreicht ist: Medianwert 1,9 mm

min. 99 % < 6 µm min. 90 % < 3 µm.

Die Bestimmung der Partikelgröße und deren Verteilung erfolgt in einem Partikelmeßgerät, z.B. nach Suspendierung in Isopropanol. Die Abpackung der Mikropartikel erfolgt in 5 ml-Vials zu jeweils 2 g.

C. Zur Berstellung von 5 ml des gebrauchsfertigen Ultraschall-Kontrastmittels wird der Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (Wasser für Injektionszwacke, A) mittels einer Injektionsspritze in das Vial mit Mikropartikel (B) gegeben und bis zum Entstehen einer homogenen Suspension geschüttelt (5 bis 10 Sekunden).

11/07/2000 13:23:44 page -12-

## Beisniel 2

### A. Herstellung der Trögerflüssigkeit

Wasser für Injektionszwecke wird zu jeweils 4 ml in 5 ml-Vials abgefüllt und 20 Minuten bei 120 °C sterilisiert.

#### B. Herstellung der Mikropartikel

Unter sterilen Bedingungen wird eine sterilfiltrierte Lösung von 0,5 g Sojsölssecharoseglycerid in 40 g Isopropenol auf 199,5 g sterile Galactosepartikel aufgezogen, bei 40 °C und 200 Torr das Isopropenol abgetrocknet und mit einer Luftstrahlmühle vermahlen, bis folgende Größenverteilung der Partikel erreicht ist: Hedienwert 1,9 sm

mir. 99 % < 6 cm mir. 90 % < 3 cm.

Die Bestimmung der Partikelgröße und deren Verteilung erfolgt in einem Partikelmeßgerät, z.B. nach Suspendierung in Isopropanol. Die Abpackung der Mikropartikel erfolgt in 5 ml-Vials zu jeweils 2 g.

C. Zur Herstellung von 5 ml des gebrauchsfertigen Ultraschall-Kontrastmittels wird der Inhalt eines Vials mit trägerflüssigkeit (Wasser für Injektionszwecke, A) mittels einer Injektionsspritze in das Vial mit Mikropartikel (B) gegeben und bis zum Entstehen einer homogenen Suspension geschüttelt (5 bis 10 Sekunden).

11/07/2000 13:23:44 page -13-

- 13 -

#### Beispiel :

#### A. Herstellung der Trägerflüssigkeit

Nan löst 4,5 g Natriumchlorid in Wasser bis zum Volumen von 500 ml, drückt die Lösung durch ein 0.2 mm-Filter, füllt jeweils 4 ml dieser Lösung in 5 ml-Visls und sterilisiert 20 Minuten bei 120 °C.

## B. Herstellung der Mikropartikel

Unter sterilen Bedingungen wird eine sterilfiltrierte Lösung von 0,5 g Polyaethylenglykolsorbitammonostearet in 40 g Isopropanol auf 199,5 g sterile Galactosepartikel aufgezogen, bei 40 °C und 200 Torr das Isopropanol abgetrocknet und mit einer Luftstrahlmühle vermahlen, bis folgende Größenverteilung der Partikel erreicht ist:

Medianvert 1,9 am min. 99 % < 6 am

min. 90 % < 3 µm.

Die Bestimmung der Partikelgröße und deren Verteilung erfolgt in einem Partikelmeßgerät, z.B. nach Suspendierung in Isopropanol. Die Abpackung der Mikropartikel erfolgt in 5 ml-Vials zu jeveils 2 g.

C. Zur Herstellung von 5 ml des gebrauchafertigem Ultraschall-Kontrastmittels wird der Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (Wasser für Injektionszwecke, A) mittels einer Injektionsspritze in das Vial mit Mikropartikel (B) gegeben und bis zum Entstehen einer homogenen Suspension geschüttelt (5 bis 10 Sekunden).

11/07/2000 13:23:44 page -14-

- 14-

#### Beispiel 4

# A. Herstellung der Trägerflüssigkeit

Man löst 4.5 g Natriumchlorid in Wasser bis zum Volumen von 500 ml, drückt die Lösung durch ein 0,2 mm-Filter, füllt jeweils 4 ml dieser Lösung in 5 ml-Vials und sterilisiert 20 Minuten bei 120 °C.

## B. Herstellung der Mikropartikel

Unter sterilen Bedingungen wird eine sterilfiltrierte Lösung von 0,5 g Palmölxylit in 40 g Isopropanol auf 199,5 g sterile Galactosepartikel aufgezogen, bei 40 °C und 200 Torr das Isopropanol abgetrocknet und mit einer Luftstrahlmühle vermahlen, bis folgende Größenverteilung der Partikel erreicht ist:

Hedianwart 1,9 mm

min. 99 % < 6 Am min. 90 % < 3 Am.

Die Bestimmung der Partikelgröße und deren Verteilung erfolgt in einem Partikelmeßgerät, z.B. nach Suspendierung in Isopropanol. Die Abpackung der Mikropartikel erfolgt in 5 ml-Vials zu jeweils 2 g.

C. Zur Herstellung von 5 ml des gebrauchsfertigen Ultraschall-Kontrastmittels wird der Inhalt eines Vials mit Trägerflüssigkeit (Wasser für Injektionszwecke, A) mittels einer Injektionsspritze in das Vial mit Mikropartikel (B) gegeben und bis zum Entstehen einer homogenen Suspension geschüttelt (5 bis 10 Sekunden).

11/07/2000 13:23:44 page -15-

#### Patent ansprüche

- Mikropartikel und Gasbläschen enthaltendes Kontrastmittel für die Ultraschalldiagnostik, dadurch gekennzeichnet, daß es Nikropartikel der Mischung von einer halbfesten oder flüssigen grenzflächenaktiven Substanz mit einem nicht-grenzflächenaktiven Feststoff in einem flüssigen Träger enthält.
- 2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Nikropartikel enthält, die als halbfeste oder flüssige grenzflöchenaktive Substanz Lecithine, Polyoxyethylenfettsäureester, Glycerinpolyethylenglykolrizinoleat, Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymere, Saccharoseester, Kyloglyceride, ungesättigte (C4-C20)-Fettsäuren, Mono-, Di- und Triglyceride, Fettsäureester als Mikropartikel in einer Menge von 0,01 bis 10 Gewichtsprozent enthalten.
- 3. Mittel nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel enthält, die als halbfesten oder flüssigen grenzflächenaktiven Stoff Butylstearat, Sojaölsaccharoseglycerid oder Polyäthylenglykolsorbitahmonostearat in einer Konzentration von 0,01 bis 5 Gewichtsprozent, vorzugsweise 0,04 bis 1 Gewichtsprozent, enthalten.
- 4. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß
  es Mikropartikel enthält, die als nicht-grenzflächenaktiven Feststoff Cyclodextrine, Monosaccharide,
  Disaccharide, Trisaccharide, Polyole oder anorganische
  oder organische Salze mit einer Konzentration von 5
  bis 50 Gewichtsprozent enthalten.

11/07/2000 13:23:44 page -16-

- 2 -

- 5. Hittel nach Anspruch 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß es Hikropartikel enthält, die als
  nicht-grenzflächensktiven Feststoff Galactose,
  Lactose oder a-Cyclodextrin in einer Konzentration
  von 5 bis 50 Gewichtsprozent, vorzugsweise von
  9 bis 40 Gewichtsprozent, enthalten.
- 6. Hittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es als physiologisch verträglichen flüssigen Träger Vasser, physiologische Elektrolytlosung, die wäßrige Lösung von ein- oder mehrwertigen Alkoholen wie Glycerin, Polysthylenglycol oder von Propylenglykolmethylester oder die wäßrige Lögung eines Hono- oder Disaccharides enthElt.
- Nittel nach Anspruch 1 und 6, dadurch gekennzeichnet, daß es als physiologisch verträglichen ' flüssigen Träger Vasser oder physiologische Kochsalzlösung enthält.
- Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel einer Mischung von Butylstearat und Galactose in Wasser enthält.
- Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel einer Mischung von Sojaölseccharoseglycerid und Galactose in Wasser enthält.
- 10. Hittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Hikropartikel einer Mischung von Polyäthylenglycolsorbitanmonostearat und Galactose in physiologischer Kochsalzlösung enthält.

11/07/2000 13:23:44 page -17-

- 3 -

- 11. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es Mikropartikel einer Mischung von Paluölxylit und Galactose in physiologischer Kochselzlösung enthält.
- 12. Ein Kit für die Herstellung eines Mikropartikel und Gesbläschen enthaltenden Ultraschall-Kontrastmittels bestehend
  - a) aus einem Behälter mit einem Volumen von 5 - 10 ml, versehen mit einem Verschluß, der die Entnahme des Inhalts unter sterilen Bedingungen ermöglicht, gefüllt mit 4 ml des flüssigen Trägers
  - b) sus einem zweiten Behälter mit einem Volumen von 5 10 ml, versehen mit einem Verschluß, der die Entnahme des Inhalts oder Zugabe eines Stoffgemisches unter sterilen Bedingungen erböglicht, gefüllt mit Mikropartikel einer Mischung von einer halbfesten oder flüssigen grenzflächenektiven Substanz mit einem nichtgrenzflächenektiven Peststoff mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von <1 bis 10 µm, vobei das Gewichtsverhältnis von grenzflächenativer Substanz zu gegebenenfalls vorhandenen nicht-grenzflächensktivem Peststoff 0,01 bis 5 zu 100 beträgt und die Mikropartikel in einer Menge von 5 bis 50 Gewichtsprozent, vorzugsweise von 9 bis 40 Gewichtsprozent, enthalten sind.

11/07/2000 13:23:44 page -18-

13. Verfahren zur Herstellung eines Mikropartikel und Gasbläschen enthaltenden Kontrastmittels für die Ultraschell-Diagnostik, dedurch gekennzeichnet, daß man Mikropartikel einer Mischung von einer physi ologisch verträglichen, halbfesten oder flüssigen grenzflächenaktiven Substanz mit einem physiologisch verträglichen nicht-grenzflächenaktiven Feststoff mit einer physiologisch verträglichen Trägerflüssigkeit vereinigt und bis zum Entstehen einer homogenen Suspension schüttelt.

11/07/2000 13:23:44 page -19-

# This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

# **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

□ BLACK BORDERS
□ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
□ FADED TEXT OR DRAWING
□ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
□ SKEWED/SLANTED IMAGES
□ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
□ GRAY SCALE DOCUMENTS
□ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
□ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

# IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

☐ OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.